

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук професора **Охотнікової О. М.**
на дисертаційну роботу доцента кафедри педіатрії № 2 Львівського
національного медичного університету імені Данила Галицького
Мацюри Оксани Іванівни «ІГЕ-залежна алергія до білків коров'ячого
молока у дітей: особливості розвитку, перебігу профілактики і лікування»,
яка подана до офіційного захисту у спеціалізовану вчену раду Д. 35.600.04 при
Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького
на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю

14.01.10 – педіатрія

Актуальність обраної теми дисертації. Алергічні захворювання завдяки повсюдній поширеності є однією з найактуальніших проблем людства. Вкрай небезпечним з цих позицій є стійка тенденція до невпинного зростання частоти алергічної патології у дітей, що набуло масштабу пандемії і є світовим трендом. Увага фахівців різних спеціальностей прикута до питань вчасної діагностики та адекватного лікування найбільш ранніх алергічних проявів у дітей саме перших років життя, з яких починається алергічний «марш», – а саме харчової алергії, яка дебютує алергічним ураженням органів травлення, які контактирують з харчовими алергенами з перших хвилин життя немовлят. На жаль, на сьогодні не існує доведених дієвих і водночас безпечних лікувально-профілактичних заходів щодо запобігання і попередження формування алергічних реакцій з боку органів і систем у дітей перших днів і місяців життя. Тому все це висуває на перший план наукових інтересів фахівців пошук прогностичних і діагностичних критеріїв формування харчової алергії, ефективних заходів терапії і можливостей попередження її розвитку у схильних до неї дітей. Тому вибір теми дисертаційної роботи Мацюри О. І. є актуальним, цілком логічним і повністю обґрунтованим, що, без сумніву, відповідає сучасним вимогам як теоретичної, так і практичної педіатрії та знаходиться на вістрі наукових інтересів дитячої алергології.

Метою дослідження здобувач обрала оптимізацію ранніх діагностичних і прогностичних критеріїв IgE-опосередкованої алергії до білків коров'ячого молока у дітей раннього віку і створення науково обґрунтованого алгоритму лікувально-профілактичних заходів задля формування толерантності до білкових компонентів коров'ячого молока.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом 2-х науково-дослідних робіт кафедри педіатрії № 2 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького за темами:

«Оптимізація методів прогнозування, профілактики і лікування найбільш поширених захворювань і функціональних порушень у дітей» (№ держреєстрації - 0113U000209) та «Удосконалення методів діагностики, лікування і профілактики найпоширеніших захворювань дитячого віку» (№ держреєстрації – 0117U001083). Науковий консультант даної роботи - відомий фахівець в галузі педіатрії і дитячої алергології – завідувач кафедри педіатрії №2 Львівського національного медичного університету імені Данили Галицького, доктор медичних наук, професор Беш Л.В.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше концептуально з позицій IgE-імунних і неімунних механізмів формування харчової гіперчутливості шляхом використання сучасних різних методів алергодіагностики в комплексі з вивченням ролі потужних медіаторів алергічного запалення – інтерлейкінів-4 і -13, молекулярно-генетичних маркерів та імуногістохімічних змін еозинофілів у дітей раннього віку визначено клініко-параклінічні особливості перебігу ранніх етапів найпоширенішого варіанту харчової алергії – IgE-опосередкованої алергії до білків коров'ячого молока.

Уперше встановлено значну загальну частоту (25 % за даними анкетування) гіперчутливості до харчових продуктів (до коров'ячого молока – 8,6 %) у маленьких дітей Львівського регіону з конкретизацією щодо різних клімато-географічних зон Львівщини. Також вперше визначено структурні особливості харчової гіперчутливості у дітей раннього віку, серед тригерів якої переважає коров'яче молоко (34 %), менше – куряче яйце (28,3 %) і пшениця (23,5 %).

Доведено суттєвий ($R=1,36-0,21$) вплив обтяженого сімейного анамнезу (за рахунок наявності хвороб шкіри, полінозу, крапив'янки, астми, хвороб шлунка і 12-палої кишки) щодо формування у дітей харчової гіперчутливості.

Вперше також відзначено зростання числа зв'язаних IgE та антиген-специфічних мішеней до казеїну на еозинофілах у разі харчової анафілаксії, що засвідчує метаболічну активацію цих клітин і призводить до розвитку клінічної симптоматики найгострішого стану, що загрожує життю житини.

Детально охарактеризований молекулярний спектр сенситизації до молочних білків з визначенням логічного достовірного зв'язку мажорного компоненту молока – казеїну, діаметру папули прик-тесту і специфічними IgE до алергену α -лактоальбуміну і собаки. Мінорний компонент – бичачий сироватковий альбумін – демонструє перехресну реактивність з алергенами кота і собаки.

Важливою науковою заслугою роботи є визначення вагомих прогностичних критеріїв щодо можливості успішного формування толерантності до білків молока, а саме те, що низька ймовірність формування толерантності на тлі елімінаційної дієти вже є показом до застосування специфічної оральної індукції толерантності.

Дістали подальшого розвитку уявлення про роль молекулярно-генетичних маркерів алергії до білків коров'ячого молока у дітей, які, зокрема, визначають поліморфізм деяких генів інтерлейкіна-4 (IL-4) та IL-13. Так, наявність генотипів CC локуса гена IL-4 збільшує ризик розвитку у дитини алергії до білків коров'ячого молока. Така ж тенденція простежується і в разі частоти наявності алеля A. Аналогічні висновки можна зробити і в випадку присутності у дитини генотипів AA і GA поліморфного локуса гена IL-13 та наявності алеля A, що також підвищує ризик розвитку алергії до білків коров'ячого молока, та ймовірно може підтримувати покази до проведення специфічної оральної індукції толерантності до молочних білків.

Вперше комплексно оцінено динаміку сироваткових рівнів IL-4 та IL-13 залежно від поліморфізму генів IL-4 і IL-13 в процесі проведення у дітей з АБКМ специфічної оральної індукції толерантності, яка викликала суттєву позитивну динаміку процесу з підтвердженням значного зменшення рівня IL-13 у дітей з генотипом GA і GG локусу IL-13 і зниження вмісту IL-4 у дітей з генотипом CC локуса IL-4.

Вперше науково обґрунтовано і доведено доцільність комплексного підходу до алергодіагностики та проведення найсучаснішого методу лікування харчової алергії – специфічної оральної індукції толерантності, що доказово підтримано істотним зростанням кумулятивної кількості молочного білка, нормалізацією сироваткового рівню кальцію і суттєвим зниження цитокінів IL-4 та IL-13.

Практичне значення одержаних результатів. Результати роботи мають не тільки науковий інтерес, а й значний прикладний характер, і будуть корисні не лише дитячим алергологам, а й педіатрам і дитячим гастроентерологам, що вже свідчить про велику потребу у міждисциплінарному підході за участю ендоскопістів та гістологів як з точки зору діагностики системних алергічних уражень, так і їх лікування.

З метою вчасного виявлення харчової гіперчутливості у дітей раннього віку запропоновано математичну модель, яка надає можливість прогнозування ризику формування харчової гіперчутливості.

Для виявлення індивідуальної гіперчутливості дітей до білків коров'ячого молока рекомендований певний етапний діагностичний алгоритм, який передбачає початок з проведення оральних провокаційних проб і шкірного тестування, потім – визначення специфічних IgE і молекул алергенів молока за певних умов місця проведення для уникнення можливості розвитку побічних подій, для чого розроблені автором чіткі критерії з урахуванням віку, розміру рівня специфічного IgE і розміру папул.

Рекомендовані до використання спосіб діагностики алергії до білків коров'ячого молока (АБКМ) і способи виявлення та визначення ступеню

ризику розвитку даної алергії залежно від віку дитини, що підтримано З-ма патентами України на корисну модель.

Доцільним для застосування є спосіб прогнозування можливості формування толерантності у випадку застосування елімінаційної дієти у дітей раннього віку з АБКМ, що включає 9 факторів впливу на процес розвитку бажаної імунної відповіді. Дітям з низькими шансами сформування терпимості до молока (50 %) за методом елімінаційної терапії показане проведення специфічної оральної індукції толерантності, що є сучасним і перспективним методом імунотерапії з доведеним позитивним ефектом.

Корисними для батьків є 6 розроблених автором кишеневкових брошур-пам'яток, які роз'яснюють зміст алгоритму покрокового обстеження дітей з молочною алергією та надання індивідуалізованих лікувально-профілактичних заходів.

Запропоновано до широкого впровадження комплекс параметрів для моніторингу настання ефекту при проведенні специфічної оральної індукції толерантності: кумулятивну толеровану кількість білка, рівень сироваткового кальцію та імунологічне моніторування з визначенням змін вмісту цитокінів IL-4, IL-13 з бажаною динамікою оцінки якості життя, для чого запропоновано адаптовану автором для українських громадян 4 варіантів нескладних опитувальників для батьків залежно від віку їхніх дітей, які усі захищені авторським правом на твір та галузевими нововведеннями.

Доцільним до застосування створені автором рекомендації «Алгоритм підготовки і проведення оральних провокаційних проб в педіатрії» та «Таблиці для розрахунку еквіваленту білка коров'ячого молока в різних молочних продуктах», на які також отримані 2 свідоцтва про авторське право на твір та видано 2 галузевих нововведення.

Теоретичні положення і практичні рекомендації дисертаційного дослідження впроваджено в навчальний процес кафедр педіатрії 6 вищих медичних закладів освіти – Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, Запорізького державного медичного університету, Українського медичного стоматологічного університету, Івано-Франківського національного медичного університету, Одеського національного медичного університету.

Результати дослідження впроваджено в діяльність профільних відділів 7 дитячих лікувальних закладів України - Національної дитячої спеціалізованої лікарні «ОХМАТДИТ» МОЗ України (м. Київ), КНП «Міської дитячої лікарні № 5 Запорізької міської ради», КНП «Міської дитячої клінічної лікарні м. Львова», КНП «4-ої міської клінічної лікарні м. Львова», КНП «Миколаївської

міської лікарні», КНП «Дрогобицької дитячої міської лікарні», КНП «Новояворівської районної лікарні ім. Юрія Липи».

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, які сформульовані в дисертації, безсумнівна і визначається адекватним методичним підходом для досягнення поставленої мети роботи з чітким формулюванням завдань дослідження, що відповідають його меті, значним обсягом різноманітних досліджень (аналіз 3214 анкет батьків дітей раннього віку, включено до дослідження 209 дітей, з яких 107 – з IgE-опосередкованою АБКМ і 70 дітей того ж віку з неімунною харчовою гіперчутливістю і 32 – без харчової гіперчутливості – групи порівняння), сучасними інформативними методами дослідження (різних алергологічних – оральної провокаційної проби з молоком за методом A. Muraro і шкірних тестів, багатокомпонентного фотометричного ALEX MADX, молекулярної алергодіагностики, молекулярно-генетичних, імуноферментних, гістохімічних, імуногістохімічних методів, оцінки якості життя для визначення великої кількості найсучасніших чутливих показників), ретельною відповідною статистичною обробкою даних з використанням різних варіацій математичного аналізу, детальною оцінкою результатів роботи і відповідністю отриманих даних сучасним уявленням дозволяють вважати подані автором наукові положення достовірними і науково обґрунтованими. Висновки і практичні рекомендації доведені результатами власного дослідження, яке виконано згідно вимог, норм і основних положень з питань етики сучасних міжнародних та вітчизняних документів з біомедичних досліджень та дотримання прав дитини.

Оцінка наукової та літературної якості складу матеріалу і стилю дисертації загалом позитивна. Роботу виконано на високому методичному і професійному рівні, викладено згідно сучасних вимог державною мовою на 377 сторінках тексту; побудовано за традиційним планом і оформлено відповідно до державних стандартів: містить анотацію (8 стор.), вступ, аналітичний огляд літератури, розділ про матеріали і методи дослідження, 7 розділів власних спостережень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, 49 таблиць і 35 рисунків, 9 висновків, 6 практичних рекомендацій, 5 додатків. Робота ілюстрована 3 клінічними випадками. Список літературних посилань налічує 410 джерел: кирилицею – 88, латиницею – 322, що займає 45 сторінок.

Публікації результатів роботи. За матеріалами дисертації опубліковано 39 наукових праць, з них 1 монографія, 21 стаття, з яких 11 – у провідних фахових наукових виданнях, що рекомендовані ДАК МОН України, 5 статей – у закордонних наукових медичних виданнях, в т.ч. країн Європейського Союзу, і 5 - в журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз Scopus і Web of Science. З 29 статей – 5 моноавторських; також 14 тез у матеріалах наукових

форумів (з них 9 – іноземних). Отримано 3 патенти України на корисну модель, 6 свідоцтв про авторське право на твір, видано 6 галузевих нововведень.

Характеристика роботи по розділах.

В анонтації (8 стор.) у стислому викладі подано конкретну інформацію щодо теми і змісту дисертації з наведенням найважливіших результатів дослідження, що в достатньому обсязі відтворює основні матеріали і положення роботи.

У вступі (14 стор.) обґрунтовано мотивацію та актуальність обраної теми роботи, визначено напрям, мету і задачі, а також наукову новизну, практичну значимість, особистий внесок автора і впровадження результатів дослідження.

Розділ 1 «Сучасні аспекти лікування алергії до білків коров'ячого молока у дітей раннього віку» (огляд літератури, 39 стор., 16,8 % від основного тексту) дає повне уявлення про стан проблеми різних форм харчової гіперчутливості з акцентом на сучасну епідеміологічну характеристику, етіологію та патогенез алергії до білків коров'ячого молока у дітей перших років життя та виділяє комплекс невирішених і актуальніх питань. Детально обговорено найсучасніші аспекти схильності дітей до розвитку харчової алергії і можливості дієто- та алергодіагностики. Значна увага відведена аналізу можливих механізмів модифікації перебігу алергії у дітей методом специфічної оральної індукції толерантності та оцінці ефективності даного методу лікування.

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження» (30 стор.) містить повну інформацію про основні етапи і структуру роботи, групи спостереження на кожному етапі, обсяг яких достатній і свідчить про коректний методологічний підхід до проведеного дослідження. Добре описано усі застосовані численні методи дослідження. Загалом використано найсучасніші методи, які цілком адекватні для вирішення поставленої мети і конкретних завдань дисертації. Значна увага надана опису та обґрунтуванню вибору конкретних методів статистичної обробки даних. Загалом огляд літератури свідчить про глибоке знання здобувачем нагальних питань обраної теми.

Розділ 3 «Епідеміологічне вивчення харчової гіперчутливості у дітей Львівської області» (23 с.) присвячений визначеню поширеності і структурних особливостей харчової гіперчутливості за даними анкетування у дітей залежно від клімато-географічної зони мешкання. Вперше встановлено частоту харчової гіперчутливості у дітей раннього віку Львівщини, яка склала 25,2 %, а її рівень до коров'ячого молока – 8,6 % з найбільшою частотою у м. Львові (36,3 %). Цінність цього розділу полягає в аналізі факторів ризику розвитку харчової гіперчутливості, який засвідчив більші шанси її формування за наявності в родоводі шкірних хвороб, менше – полінозу, крапив'янки, астми, хвороб органів травлення тощо, що характеризує здобувача і як досвідченого науковця та клініциста високої кваліфікації.

У розділі 4 «Аналіз особливостей діагностики харчової гіперчутливості у дітей» (24 стор.) наведена нова і дуже цікава інформація щодо клінічної характеристики досліджуваних дітей з виділенням основних проявів харчової гіперчутливості, а саме – уражень шкіри, на 2-му місці - змін з боку травного каналу, на 3-ому – респіраторних проявів. Окреслені причини анафілаксії у дітей раннього віку і визначені найчастіші харчові тригери анафілактичних реакцій при алергії до білків коров'ячого молока – коров'яче молоко, горіхи, арахіс, риба, гречка. Вперше доведено, що за умов харчової анафілаксії на еозинофілах суттєво зростає кількість зв'язаних молекул IgE та антиген-специфічних мішеней до казеїну. Уточнено наукові дані про збільшення інтегрованої кількості receptorів і середнього значення флуоресценції еозинофілів, що свідчить про метаболічну активацію клітин і пояснює розвиток клінічних симптомів у дітей з анафілаксією в анамнезі.

Розділ 5 «Молекулярно-генетичні особливості формування алергії до білків коров'ячого молока у дітей» (6 стор.) містить визначення розподілу генотипів / алелів певних поліморфних локусів IL-4 і IL-13. Доведено роль генетичних маркерів у склонності до алергії до білків коров'ячого молока у дітей. Так, наявність у дитини генотипу CC поліморфного локуса T589C гена IL-4 збільшує ризик її виникнення, причому алель С достовірно частіше присутня у дітей з алергією порівняно зі здоровими однолітками. Наявність у дитини генотипів GA та AA поліморфного локуса R130Q гена IL-13 також збільшує шанси розвитку алергії у дітей з АБКМ, а наявність GG - у здорових дітей. Присутність у дитини генотипу GA поліморфного локуса R130Q гена IL-13 потенціює формування АБКМ у дітей, як і алель A, що частіше реєструється у дітей з АБКМ.

Розділ 6 «Вивчення критеріїв ефективності формування оральної толерантності у дітей з алергією до білків коров'ячого молока» (24 стор.) присвячений оцінці результатів індукції толерантності дітей до білків коров'ячого молока за наявності алергії до них з аналізом факторів, що зумовлюють досягнення повної толерантності у дітей з елімінаційною терапією. Необхідною умовою позитивного результату є аналіз молекулярного профілю сенсибілізації до білків коров'ячого молока. Визначено незалежні предиктори зменшення шансів формування толерантності у разі застосування елімінаційної дієти - це діаметр папули при прик-тестуванні понад 5 мм та sIgE до Bos d 8, Bos d 5, Bos d 4, Bos d 6 у концентрації $\geq 0,35 \text{ kUa/L}$. Причому низька ймовірність досягнення толерантності методом елімінаційної терапії є показом до призначення дитині імунотерапії за методом специфічної оральної індукції толерантності. Науково обґрунтовано необхідність комплексного підходу до діагностики і даного сучасного методу терапії харчової алергії на підставі

зростання кумулятивної кількості білка коров'ячого молока, нормалізації рівня кальцію в сироватці крові та зниження рівнів цитокінів IL-4 та IL-13.

Розділ 7 «Оцінка якості життя дітей з алергією до білків коров'ячого молока» (11 стор.) відображає суттєве зниження якості життя за критеріями емоційного впливу, тривоги, пов'язаної з їжею, соціальних та дієтичних обмежень та визначає ефективні методи для покращення якості життя, а саме за рахунок застосування специфічної оральної індукції толерантності, що підтримано зниженням бальної оцінки усіх досліджуваних показників.

У розділі 8 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» (26 стор.) автор ретельно оцінює результати роботи, змістово узагальнює їх і доказово пояснює найважливіші положення, визначає напрямки подальших досліджень.

Особистий внесок здобувача в одержанні наукових результатів, що виносяться на захист. Автором самостійно проаналізовано інформаційні джерела, проведено патентний пошук, сумісно з науковим консультантом сформульовані мета і завдання дослідження, розроблено його дизайн і методологію, організовано і проведено широке анкетування, здійснено сучасні дослідження, для чого здобувач тричі був на стажуванні у провідних центрах країн Європи і США. Автор проаналізувала отриманий матеріал та особисто здійснила статистичну обробку даних з їх аналізом та узагальненням. У наукових роботах, опублікованих у співавторстві автору належить провідна роль у зборі клінічного матеріалу, статистичній обробці та аналізі. Самостійно узагальнені наукові положення дисертації, сформульовані висновки і практичні рекомендації. Усі розділи дисертації здобувачем написані власноруч.

Висновки і практичні рекомендації відповідають меті і завданням роботи, випливають із суті дисертації, мають вагоме теоретичне і практичне значення.

Відповідність автореферату змісту дисертації. Автореферат написаний відповідно до змісту дисертації, в достатньому обсязі відтворює матеріали і результати роботи, відповідає останнім вимогам Департаменту акредитації кадрів вищої кваліфікації та ліцензування МОН України.

Загалом дисертаційна робота викликає значний інтерес і заслуговує, безумовно, позитивної оцінки, викладена змістово, конкретно і критично.

Зауваження до змісту та оформлення дисертаційної роботи. Принципових зауважень до змісту та оформлення дисертаційної роботи немає.

До несуттєвих зауважень можна віднести наступні:

1. Дещо завеликий загальний обсяг (377 сторінок) дисертації та частина вступу, що присвячена обґрунтуванню вибору теми дослідження (4 сторінки).
2. Доцільним є розділ 5, обсяг якого дуже малий (лише 6 сторінок), об'єднати з розділом 4, що було б логічним і не погіршило сприйняття матеріалу.
3. У тексті є невелика кількість граматичних та друкарських помилок.

Ці зауваження не впливають на цінність дисертаційної роботи та не знижують науково-практичного значення отриманих результатів.

В якості наукової дискусії хотілося б отримати від дисертанта відповіді на наступні запитання:

1. Чи були під Вашим спостереженням діти, які мали змішаний тип харчової алергії – IgE-опосередкований та IgE-неопосередкований, тобто еозинофільний тип? Якщо так, то який відсоток дітей мали такий варіант харчової алергії у Вашому дослідженні?
2. Чому, на Вашу думку, алергени пшениці посідають за частотою 3 місце серед харчових алергенів у дітей раннього віку?
3. Як Ви вважаєте, атопічний «марш» і алергічний «марш» - це тотожні поняття? Якщо ні, то який з цих термінів Ви вважаєте більш доречним до вживання?
4. Що є первинним, на Ваш погляд, у формуванні харчової алергії у дітей раннього віку: ураження шкірних покривів, шлунково-кишкового тракту чи органів дихання?
5. Які механізми лежать в основі ураження і появі клінічних симптомів з боку шкіри, респіраторної системи або травного каналу?
6. Як Ви ставитеся до проведення у дітей віком 3 роки і старше алерген-специфічної імунотерапії не тільки харчовими, а й інгаляційними алергенами?

ВИСНОВОК:

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і практичне вирішення наукової проблеми сучасної педіатрії і дитячої алергології щодо вдосконалення ранньої діагностики та адекватного ведення дітей раннього віку з алергією до білків коров'ячого молока на підставі визначення суттєвих факторів ризику їх розвитку і розробки науково обґрунтованого діагностичного алгоритму та схем лікування з використанням алерген-специфічної імунотерапії за принципом індукції тolerантності.

Дисертація Мацюри О.І. «IGE-залежна алергія до білків коров'ячого молока у дітей: особливості розвитку, перебігу профілактики і лікування» є самостійним завершеним науковим дослідженням, яке має суттєве значення для педіатричної науки і практики, містить нові вагомі науково обґрунтовані результати, які у сукупності вирішують актуальну науково-практичну проблему сучасної педіатрії і дитячої алергології щодо більш досконалої діагностики і лікування поширенішого варіанту харчової алергії у дітей перших 3 років життя. За актуальністю теми, методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, науковою новизною, обґрунтованістю висновків і практичною

цінністю робота повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» Постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, які пред'являються до докторських дисертацій, а її автор гідний присвоєння наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.10 – педіатрія.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри педіатрії №1
Національного університету
охорони здоров'я України
імені П. Л. Шупика МОЗ України,
доктор медичних наук професор
Експерт МОЗ України
зі спеціальності «Педіатрія»

О. М. Охотнікова

